

Über Einflüsse auf das Kollagenvolumen von Brüh- und Rohwürsten

Dimitrios Baxevanis

=
1962

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

ÜBER EINFLÜSSE AUF DAS KOLLAGENVOLUMEN
VON BRÜH- UND ROHWÜRSTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

Dimitrios Baxevanis

aus

Zoni (Griechenland)

München 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Ullrich

Referent: Professor Dr. L. Kotter

Tag der mündlichen Prüfung: 27.7.62



Meiner lieben Frau

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	2
I. Der ernährungsphysiologische Wert des Kollagens	2
1. Verdaulichkeit des Kollagens	2
a) natives Kollagen	2
b) denaturiertes Kollagen	5
2. Nährwert des Kollagens	5
II. Die Veränderungen des Kollagens durch Hitze	7
III. Die Veränderungen des Kollagens durch bakterielle Enzyme	11
C. Eigene Untersuchungen	14
I. Material und Methodik	14
1. Herstellung und Behandlung des Untersuchungsmaterials	14
2. Histologische Technik	14
3. Auswertung der Schnitte	15
II. Besprechung der Ergebnisse	15
1. Einfluß von Schüttung, Brühtemperatur und verschiedenen Schwartenzusätzen auf das Kollagenvolumen in Brühwurst	15
2. Einfluß bakterieller Verderbnis auf das Kollagenvolumen von Roh- und Brühwürsten	17
D. Diskussion	20
E. Zusammenfassung	24
F. Literaturverzeichnis	25
Lebenslauf	38

A. EINLEITUNG

Für die Qualitätsbeurteilung von Wurstwaren ist der Kollagen-gehalt ein wesentliches Kriterium. Zur Bestimmung des Kollagen-volumenanteiles in Wurstwaren haben KOTTER und Mitarbeiter die histometrische Methode eingeführt und für die Beurteilung von Brüh- und Rohwürsten Beurteilungsgrundlagen erarbeitet. Die histometrische Kollagenvolumenbestimmung wird in der tier-ärztlichen Lebensmittelüberwachung bereits häufig angewendet und soll nach den im Entwurf vorliegenden Richtlinien des Bundes-ministeriums des Innern für die amtliche Durchführung histologi-scher Wurstuntersuchungen obligat werden.

Es war jedoch noch zu klären, ob durch extreme technologische oder andere Einflüsse der Kollagenvolumenanteil in Wurstwaren wesentlich verändert wird. Mir wurde deshalb die Aufgabe ge-stellt zu prüfen, inwieweit der Kollagenvolumenanteil von Brüh-temperaturen, Schüttung oder bakterieller Verderbnis beeinflusst wird. Ferner sollte das Schrifttum über den Nährwert des Kolla-gens und über die Veränderungen des Kollagens durch Hitze und bakterielle Enzyme erfaßt werden.

B. LITERATUR

I. Der ernährungsphysiologische Wert des Kollagens

Das Schrifttum über den Nährwert des Kollagens ist spärlich. Ganz allgemein wird das Kollagen als ernährungsphysiologisch geringwertiges Eiweiß angesehen, weil es einerseits in rohem Zustand nur schwer verdaut werden könne und ihm andererseits gewisse essentielle Aminosäuren fehlen.

1. Verdaulichkeit des Kollagens

a) natives Kollagen

MITCHELL, BEADLES und KRÜGER (80) haben festgestellt, daß bindegewebsreiches Fleisch von den Enzymen des Verdauungstraktes schwerer abgebaut wird als bindegewebsarmes. Auch SMORODINZEW (100) hat beobachtet, daß Fleisch mit höherem Gehalt an Bindegewebe durch Pepsin schlechter verdaut wird als schieres Fleisch, und THOMAS und SEYMOUR-JONES (105) bezeichneten das Bindegewebe sogar als einen unverdaulichen Bestandteil des Muskelfleisches. GRAU und HAMM (42) vertreten die Meinung, daß bindegewebsarmes Fleisch zarter und besser verdaulich ist und im Nährwert höher liegt als bindegewebsreiches. Allerdings könne eine geringe Menge an Bindegewebe nicht als wertmindernd angesehen werden; ein gewisser Anteil an Elastin sei sogar positiv zu beurteilen, weil Elastin nach ABDERHALDE und MEYER (1) im Magen Enzyme adsorbiere und in aktiver Form in den Darm befördere.

Auch MÖHLER und ANTONACOPOULOS (81) sowie ANTONACOPOULOS (2) nehmen an, daß rohes Bindegewebe für den Menschen praktisch unverdaulich sei. KOTTER (58) erwähnt bei der Besprechung des ernährungsphysiologischen Wertes von Kollagen und Elastin deren Beständigkeit gegenüber proteolytisch wirkenden Fermenten, und auch BERG (8) weist auf die unterschiedliche Verdauung tierischer Proteine hin.

Dagegen hat HÄRI (47) angenommen, daß Bindegewebe und Elastin sowohl von Pepsin als auch von Trypsin angegriffen werden. Allerdings sollen Elastin, Kollagen und die Eiweißkörper des Blutplasmas von Pepsin rascher abgebaut werden als von Trypsin, während Trypsin alle anderen Eiweißkörper rascher hydrolysiere.

Das widerspricht allerdings den Angaben von EWALD und KÜHNE (28), die 1876 beobachtet hatten, daß Kollagen von Trypsin nicht verdaut wird. Diese Feststellung ist jedoch in neuerer Zeit bezweifelt worden, nachdem THOMAS und SEYMOUR-JONES (105) sowie KÜNTZEL und DIETSCH (37) beobachtet hatten, daß Hautpulver durch kleine Trypsinmengen zum größten Teil verdaut wird und sogar Hautstückchen durch langes Einwirken von großen Trypsinmengen merklich angegriffen werden. Den daraus gezogenen Schluß, daß natives Kollagen gegen Trypsin empfindlich sei, haben dann aber GRASSMANN, JANICKI und SCHNEIDER (40) teilweise widerlegt. Sie konnten nachweisen, daß Hautpulver stets ein Gemisch aus nativem und denaturiertem Kollagen darstellt und daher aus der Angreifbarkeit durch Trypsin Fehlschlüsse gezogen werden können. Nach GRASSMANN und Mitarbeitern (40) wird tatsächlich natives Kollagen von Trypsin in üblicher Menge praktisch nicht angegriffen, was später auch CHERBULIEZ, JEANNERAT und MEYER (19) sowie GUSTAVSON (46) bestätigt haben. So wurden von Trypsin in 15 Tagen nur 2,2 % rohes Kollagen verdaut, und selbst bei einer Temperatur von 30 - 40 ° C wurden in 24 Stunden nur 2,5 % Kollagen abgebaut (46).

Durch oftmalige, lang andauernde Einwirkung von sehr großen Mengen Trypsin soll Kollagen allerdings, vielleicht infolge einer vorangehenden, langsam verlaufenden Umwandlung, zu einem beträchtlichen Teil in Lösung gebracht werden können (40). Bei der lang andauernden Einwirkung könnten meines Erachtens aber auch spezifische bakterielle Enzyme den beobachteten Aufschluß des Kollagens bewirkt haben.

STIASNY und ACKERMANN (102) hatten früher schon beobachtet, daß der Grad der Trypsinempfindlichkeit des Hautkollagens von dessen Quellungs- zustand und von der Art der Vorbehandlung abhängig ist.

Für die ernährungsphysiologische Verdaulichkeit sind diese Beobachtungen allerdings unbeachtlich, weil es sich dabei um so drastische Einwirkungen handelt, wie sie im Verdauungstrakt nicht zu erwarten sind.

Es kann also gesagt werden, daß lediglich unter "verschärften" Bedingungen rohes Kollagen durch Trypsin in Lösung gebracht wird (40, 37, 78, 101).

Die spezifische Proteinase des Säugetieres für die Spaltung des nativen Kollagens ist das Pepsin. So konnten schon 1910 BAUMSTARK und COHNHEIM (6) in vitro und in vivo zeigen, daß rohes Bindegewebe durch Pepsin-Salzsäure vollständig verdaut wird. Nach SCHÖNBERG und LOCHMANN (98) werde diese "optimistische Meinung" jedoch meist nicht geteilt. Die Kol-

lagerspaltung durch Pepsin kann erst nach der Säurequellung des Kollagens erfolgen (98). Im Magen wird das Kollagen zunächst unter der Einwirkung der Magensäure aufgelockert und dann so weitgehend durch Pepsin verdaut, daß nur noch "Leimalbumosen" und "Leimpeptone" vorliegen und damit die Fähigkeit zur Gelatinierung verlorengegangen ist (62). HÄRI (47) hatte auch schon darauf hingewiesen, daß das Kollagen durch Pepsin zunächst in Glutin übergeführt und dann zu Albumosen und Peptone abgebaut wird. Auch im Fettgewebe löst Pepsin-Salzsäure das Bindegewebe und die Zellmembranen auf, so daß das Fett auf diese Weise schon im Magen freigesetzt wird (62). Da kollagenes Bindegewebe durch Darm- und Pankreasfermente praktisch nicht zerlegt wird, kann das Vorkommen von unverdaulichem Kollagen im Stuhl als ein Zeichen für das Versagen der Magenverdauung angesehen werden (54).

Die Verdauung des Kollagens ausschließlich durch Pepsin läßt allerdings nicht den Schluß zu, daß Kollagen, das den Magen bereits passiert hat, mit dem Kot unverändert ausgeschieden wird, wie dies SCHMID (96) angenommen hat. BAUMSTARK und COHNHEIM (6) konnten nachweisen, daß beträchtliche Mengen an Pepsin in den Darm übergehen und dort den Abbau des Kollagens fortsetzen. ABDERHALDEN und MEYER (1) haben dies bestätigt und aus diesen Erscheinungen den Schluß gezogen, daß Elastin und Bindegewebe Pepsin einschließen, das dann im Darm durch Verdauung des Trägers wieder frei wird.

Der Aufschluß des rohen Kollagens durch Pepsin-Salzsäure erfolgt zwar langsamer als die Verdauung von Myosin und anderen im Fleisch vorkommenden hochwertigen Eiweißarten (100), rohes Kollagen kann aber doch vom Säugetier und vom Menschen vollständig aufgeschlossen werden. Die Einschränkungen hinsichtlich der Verdaulichkeit können sich daher nur auf die Dauer der Verdauung dieser Eiweißart in vitro beziehen. Das native Kollagen kann auch durch bakterielle Enzyme angegriffen werden. Von verschiedenen Bazillus- und Clostridienarten wird ein spezifisches Ferment, die Kollagenase, gebildet.

Von der "Unverdaulichkeit" des nativen Kollagens wird beim Nachweis von rohem Kollagen in Fleisch und Fleischwaren Gebrauch gemacht. Als Fermente werden Trypsin (98), Papain (87) und Pankreatin (84) empfohlen, weil diese Fermente Kollagen praktisch nicht hydrolysieren und somit das Kollagen gravimetrisch ermittelt werden kann. CHERBULIEZ, JEANNERAT und MEYER (19) haben für Papain nachgewiesen, daß es rohes Kollagen praktisch nicht abbaut (in 15 Tagen nur 5,2 %) (siehe auch 82, 107).

Da Muskeleiweiß von Pepsin rascher verdaut wird als Kollagen, wurde auch eine Nachweismethode mit Pepsin ausgearbeitet (43).

In den letzten Jahren wurde von BALO und BANGA (4) ein Enzym als Pankreasextrakt isoliert, das weder mit Chymotrypsin noch mit Trypsin identisch ist und das imstande sein soll, das Elastin zu lösen. Die Vermutung von BANGA und NOWOTNY (5), daß es sich dabei lediglich um eine Depolymerisation des Elastins ohne Lösung von Peptidbindungen handele, könne allerdings noch nicht als bewiesen angesehen werden.

b) denaturiertes Kollagen

Nach GRASSMANN (40, 41) sowie nach SCHNEIDER (97) und SIZER (99) weist geschrumpftes, also erhitztes Kollagen in vitro große Trypsinempfindlichkeit auf. Auch für die im Verdauungstrakt von Säugetieren vorkommenden Proteinasen ist erhitztes Kollagen weitgehend zugänglich. Nach KRZYWANIEK und FLASCHENTRÄGER (62) bildet die Magenschleimhaut neben Pepsin auch Gelatinase.

2. Nährwert des Kollagens

Nach FARKAS (32) ist verleimtes Kollagen (Gelatine) zwar leicht verdauulich, vollwertiges Eiweiß kann dadurch aber wegen des Fehlens gewisser Aminosäuren nicht ersetzt werden. FARKAS weist auf Untersuchungen hin, die erweisen haben, daß Tiere langsam verkümmern und schließlich eingehen, wenn statt vollwertigem Eiweiß Gelatine verfüttert wurde.

Bei Ergänzung der Diät durch Aminosäuren, die in der Gelatine nicht enthalten sind, oder durch eine entsprechend gewählte Gelatine-Eiweißmischung konnte das N-Gleichgewicht wieder erreicht werden. BONGERT (12) weist auf die Tatsache hin, daß in Kollagen und Elastin die Aminosäuren Cystin, Tyrosin und Tryptophan fehlen und daher diese Substanzen nur dann als Eiweißquelle für Mensch und Tier dienen können, wenn die fehlenden Bausteine zugesetzt werden. Nach einem Bericht von ZUNTZ (113), siehe auch STRIEGEL (104) sind während des ersten Weltkrieges mit gutem Erfolg Ersatzfuttermittel aus Gelatine als Eiweißträger angewendet worden, denen aufgeschlossene Hornsubstanz (Hufe, Klauen) zugesetzt worden war, die besonders reich an Cystin ist.

Nach LANG (39) wird der Nährwert des Fleisches stark vom Gehalt an Fett und Bindegewebssubstanz beeinflusst, deren Anteile im Fleisch von Tierart

Alter, Ernährungszustand und Körperstelle abhängen. Bindegewebe und Sehnen enthalten ein "ganz minderwertiges Eiweiß (Kollagen und Elastin)". Der N-Gehalt des Kollagens solle in besseren Fleischsorten 10 % des Gesamt-N oder weniger betragen.

Die ernährungsphysiologische Geringwertigkeit des Kollagens wegen des Fehlens gewisser essentieller Aminosäuren wurde auch von HOAGLAND und SNIDER (48), KRAYBILL (60), THOMAS und SEYMOUR-JONES (105), MÖHLER und ANTONACOPOULOS (81), KOTTER (58), LERCHE, RIEVEL und GOERTTLER (70) sowie von BERG (8) herausgestellt.

Nach den Untersuchungen von BLOCK (11) lassen sich die prozentualen Anteile an essentiellen Aminosäuren in Kollagen (Gelatine) und Myosin wie folgt gegenüberstellen +++):

	(Gelatine)	Myosin (Rind)
Histidin	1,0	2,9
Leucin, Isoleucin	7,1	14,0
Lysin	4,5	8,1
Methionin ++)	1,0	3,3
Phenylalanin ++)	2,1	4,9
Tryptophan	0,1 (0,0)	1,3
Valin	2,1	5,8
Threonin	1,5	4,6
Arginin +)	8,8	7,7
Cystin ++)	0,2	1,3
Tyrosin. ++)	0,3	3,4

+) Kann teilweise aber nur in ungenügendem Maße im Körper synthetisiert werden;

++) Cystin kann Methionin, Tyrosin und Phenylalanin ersetzen (95). Nach WISS (111) sollen Tyrosin und Cystin durch Phenylalanin bzw. Methionin ersetzt werden können;

+++ unter Berücksichtigung zahlreicher Arbeiten hat ANTONACOPOULOS (2) die Aminosäurezusammensetzung verschiedener Eiweißarten zusammengestellt, die mit den Analysen von BLOCK etwa übereinstimmen.

Die Tabelle zeigt, daß in Gelatine, abgesehen vom Arginin, das etwas höher liegt, wesentlich weniger essentielle Aminosäuren vorliegen als in Myosin. Das Kollagen besteht überwiegend aus Monoaminosäuren, von

denen das Glykokoll den größten Anteil hat. Vom Säugetierorganismus wird Glykokoll ebenso wie die übrigen nicht essentiellen Aminosäuren im intermediären Stoffwechsel gebildet. Lediglich Vögel sind auf eine Zufuhr des Glykokolls von außen angewiesen.

Am Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät der Universität München wird in Zusammenarbeit mit dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere zur Zeit geprüft, ob bei Fleischnahrung die Zufuhr von Kollagen einen Einfluß auf die Ausbildung des Stützgewebes ausübt.

II. Die Veränderungen des Kollagens durch Hitze

Fleisch und Fleischwaren werden in großem Umfange erhitzt verzehrt. Die Erhitzung verändert das Fleisch grundlegend, indem das Muskeleiweiß koaguliert und das Kollagen verleimt. Diese Zustandsveränderungen verursachen im Fleisch einerseits zwar eine gewisse Verfestigung der Muskelfasern, andererseits aber eine Verringerung ihres Zusammenhaltes, weil das Bindegewebe unter Aufquellung seine Festigkeit verliert.

Die Verleimung des Kollagens ist bei vielen Fleischwaren ein wesentlicher Vorgang, durch den sie den größten Genußwert erhalten. KOTTER (58) sowie KOTTER und PRÄNDL (56) haben die chemisch-physikalischen Vorgänge bei der Wurstherstellung eingehend erläutert; dabei wurde die technologische Bedeutung der Erhitzung beschrieben.

Die Vorgänge beim Erhitzen des Kollagens sind sehr heterogen und trotz zahlreicher Bemühungen bis heute noch nicht eindeutig aufgeklärt.

EWALD (29) hat 1919 die damals bekannten Beobachtungen bei der Erhitzung des Kollagens dahingehend zusammengefaßt, daß kollagene Fasern "in kochendem Wasser unter bedeutender Verkürzung plötzlich mit großer Kraft zusammenschnurren und dabei gleichzeitig dicker und glasig darscheinend werden". Dabei verkürzen sich die Fibrillen bis auf $1/4$ und in durch Verdauung gereinigtem Zustand bis auf $1/10$ ihrer ursprünglichen Länge.

Schon 1871 hatte ROLLET (91) beobachtet, daß sich kollagene Fasern zwischen 60°C und 70°C plötzlich erheblich verkürzen. Für die irreversible Umwandlung des nativen Kollagens in verleimtes Kollagen haben dann auch WÖHLISCH und DU MESNIL DE ROCHEMONT (10) eine bestimmte Temperatur beobachtet. Die Temperatur, bei der günstigstenfalls die Ver-

leimung erfolgt, beträgt auch nach KÜNTZEL (65) 40°C , sie wird durch "Strukturhemmungen" aber meist in den Bereich von $50 - 70^{\circ}\text{C}$ verschoben. Nach KÜNTZEL (63) verleimen isolierte kollagene Fasern bei geringeren Temperaturen als solche in natürlichem Verband, also unter Spannung gehaltene.

ENGELMANN (27) hat gefunden, daß Essigsäure und Salzsäure die Temperatur erniedrigen, bei der die thermische Faserverkürzung eintritt, und EWALD hat festgestellt, daß diese Erniedrigung der Schrumpfungstemperatur durch Säurebehandlung dann nicht auftritt, wenn durch gleichzeitige Kochsalzzugabe die Säurequellung verhindert wird. KÜNTZEL (65) hat diese Beobachtung bestätigt und darüber hinaus gefunden, daß unter gewissen Umständen sogar eine Schmelzpunkterhöhung eintritt. Dies wird auf eine Pickelwirkung des Salzsäure-Kochsalzgemisches zurückgeführt, die eine Verfestigung der Faserstruktur darstellt. Nach BRAYBROOKS, CANDLISCH und ATKIN (15) ist die Schrumpfungstemperatur vom Verfestigungsgrad der Ketten und Mizellen des Kollagens abhängig. Die Alkalihalogenide (z.B. NaCl) beanspruchen für sich Lösungswasser und wirken daher im wesentlichen aussalzend. Diese Vorgänge erfordern aber beträchtliche Kochsalzkonzentrationen. So fand KÜNTZEL (65), daß Kochsalz bis zu einer Konzentration von ungefähr 3 % die Verleimungstemperatur herabsetzt und erst bei $> 10\%$ NaCl die Verleimungstemperatur höher wird als diejenige des salzfreien Kollagens. KÜNTZEL erklärt diesen Vorgang damit, daß geringe Mengen Salz an das Kollagen gebunden werden und somit eine Lösungswirkung haben, während bei höheren Konzentrationen wegen der Affinität des Wassers zum Salz der Wasserentzug und damit der Aussalzeffekt (Pickelwirkung) vorherrschen.

Die erste Erklärung über chemische Vorgänge bei der Bildung von Gelatine aus Kollagen stammt von HOFMEISTER (49), der die Verleimung als Hydrolyse aufgefaßt hat. HOFMEISTER hat also Verleimung und Bildung von Gelatine als denselben Vorgang aufgefaßt. GERNGROSS (35) hat diese Deutung jedoch nicht anerkannt, weil das Kollagen im ersten Stadium der Verleimung schrumpft und dabei zunächst sogar Wasser abgibt. Auch KÜNTZEL (65) sowie KÜNTZEL und PRAKKE (64) haben für die Verleimungsreaktion keine Hydrolyse angenommen und die Bildung von Gelatine als einen gesonderten Vorgang betrachtet.

Nach KÜNTZEL (65) besteht die Verleimung in zwei Vorgängen, von denen der erste ein "Schmelzvorgang" ist (siehe auch GARRET und FLORY (38)), der zweite, der durch den ersten ausgelöst wird, stellt ein

"Zusammenknicken" der Hauptvalenzketten dar und führt zu einer irreversiblen Desorientierung des Fasergefüges. Eine ähnliche Darstellung der Verleimung hat ASTBURY (3) gegeben: Beim "Schmelzvorgang" werden die Gitterkräfte in der Kollagenstruktur aufgehoben (siehe auch GUSTAVSON (45)) und die Polypeptidketten können aneinander abgleiten, wodurch das Kollagen einen gummiartigen Zustand annimmt. Die tiefgreifenden Strukturveränderungen bei der Verleimung kommen dann erst dadurch zustande, daß durch die kinetische Eigenenergie der Moleküle die Gitterkräfte überwunden werden und sich die Moleküle verkürzen. Gleichzeitig wird Hydratwasser frei, in dem sich die nicht vernetzten Moleküle lösen können. Nach KUHN (68) nimmt in diesem Zustand das Kollagenmolekül die Form eines lockeren Knäuels an.

Mit der Verleimung des Kollagens geht auch eine Verringerung des spezifischen Gewichts einher. KÜNTZEL (65) hat diese Erscheinung als Beweis dafür gewertet, daß beim Verleimen das Kristallwasser des Kollagens frei wird. Dieses wird dann beim nachfolgenden Abkühlen nicht mehr so stark gebunden, daß die Volumenkontraktion das ursprüngliche Ausmaß erreicht. Daß nach der Verleimung des Kollagens wesentlich mehr Wasser immobilisiert wird als im nativen Kollagen sei damit zu erklären, daß im verleimten Kollagen die gleichen Bindungskräfte wie im nativen vorhanden sind, die dann unter geringerer Volumenkontraktion mehr Wasser binden können. KÜNTZEL (65) hat für die Verleimung des Kollagens folgendes Schema aufgestellt:

Natives Kollagen Erwärmung → Geschmolzenes Kollagen (gestreckte Moleküle im Hydratwasser) Zusammenknäuelung → Verleimtes Kollagen (geknäuelte, jedoch mizellar geordnete Moleküle, Hydratwasser frei) Abkühlung → Verleimtes Kollagen, kristallin (geknäuelte, mizellar geordnete und durch Hydratwasser miteinander verbundene Kollagenmoleküle, Hydratwasser locker gebunden).

Nach KÜNTZEL (65) führt die Verleimung nicht zwangsläufig zur Bildung von Gelatine. Durch die Verleimung wird Kollagen zwar gelatineähnlich, ist aber nicht damit identisch.

Verleimtes Kollagen weist noch eine Faserstruktur auf und bleibt beim Erhitzen ungelöst; es wird lediglich leimig und klebrig, was beim Abkühlen wieder verschwindet, während Gelatinegel beim Erhitzen verflüssigt wird, was auf die Freigabe von gebundenem Wasser zurückzuführen ist. Beim Erstarren der Gelatinelösung werden zwischen den Kettenmolekülen aber dann ähnliche Bedingungen hergestellt wie sie auch bei der Abkühlungsumwand-

lung der verleimten Faser vorhanden sind. Für die Bildung der Gelatine nimmt KÜNTZEL (65) eine Hydrolyse an. Durch Alkalibehandlung von rohem Kollagen werden einige Polypeptidgruppen aufgespalten (siehe auch BOWES und MOSS (13)), ohne daß zunächst die Faserstruktur verlorengeht. Beim nachfolgenden Erhitzen tritt aber dann eine weniger deutliche Schrumpfung ein; das Gefüge zerfällt hierbei direkt in kleine Faserbruchstücke. KÜNTZEL hat diesen Vorgang als Lösungshydrolyse und Desaggregation bezeichnet und betrachtet somit Verleimung und Gelatinierung als zwei streng zu unterscheidende Vorgänge.

Im Gegensatz zu KÜNTZEL (65) stehen CHERBULIEZ, JEANNERAT und MEYER (19) auf dem Standpunkt, daß die eigentliche Schrumpfung völlig reversibel ist (7) und nur dann irreversibel wird, wenn durch Hydrolyse die Wasserlöslichkeit der Moleküle zunimmt. Mit fortschreitender Hydrolyse wird eine Zunahme der Trypsinempfindlichkeit beobachtet, während lediglich geschrumpftes Kollagen gegen Trypsin weitgehend resistent ist.

CHERBULIEZ, JEANNERAT und MEYER (19) rechnen im Gegensatz zu KÜNTZEL (65) die Bildung von Gelatine der Verleimungsreaktion zu, die nach ihrer Meinung in der reversiblen Schrumpfung und der irreversiblen Hydrolyse durch Hitzeeinwirkung besteht. Diese Ansicht wird dadurch gestützt, daß schon beim Erhitzen Gelatine gebildet wird, also eine Kettenverkürzung eintritt, die bei weiterer Erhitzung eine Abnahme der Viskosität der Gelatine, also eine weitere Kettenverkürzung bewirkt. Damit dürfte die von KÜNTZEL (65) aufgestellte Theorie, daß durch längere Erhitzung die angenommenen Mizellen (das sind Bündel von parallel orientierten Molekülen) aufgelöst werden, also lediglich die Seit-an-Seit-Bindung der Moleküle abnimmt und damit die Bindung von Wasser verlorengehe, in Frage gestellt sein.

Während die Gelatine industriell durch Einwirkung von Alkalien auf Kollagen und nachfolgendem "Ausschmelzen" hergestellt wird, gewinnt das Fleischergewerbe gelatinierende kollagene Substanz (Sülze) durch Kochen kollagener Tierkörperteile, wie Schwarten, Sehnen und dergleichen, zum Teil in schwacher Säure (Essigsäure). Dabei bleiben die Amidgruppen unverändert, während durch den Äscherprozeß (Alkalibehandlung) die Amidgruppen der Gelatine in Form von NH_3 abgespalten werden (siehe auch GRASSMANN (39)). Das ist auch der Grund, daß die durch alkalische Hydrolyse gewonnene Gelatine einen p_H -Wert von 4,7 - 5,0 aufweist, während die durch saure Hydrolyse gewonnene einen solchen von 9,0 besitzt (SAUER (94)).

Über besondere Einflüsse auf die Hitzeumwandlung des Kollagens in Fleischwaren ist wenig bekannt. Die besprochenen Vorgänge wurden vorwiegend durch bestimmte Fragestellungen in der Physiologie, der Lederforschung und der Gelatineherstellung aufgeklärt. Bei der Fleischverarbeitung sind aber auch noch andere Einflüsse auf die Verleimung möglich, wie Zerkleinerung, Pökeln, Autolyse u. a., weshalb auf diesem Gebiet gesonderte Untersuchungen angezeigt wären.

III. Die Veränderungen des Kollagens durch bakterielle Enzyme

Durch die Tatsache, daß gelegentlich auch verdorbene Fleischwaren zur histologischen Untersuchung gelangen und in diesen auch der Anteil an kollagener Substanz zu bestimmen ist, hat sich die Frage ergeben, ob durch bakterielle Einflüsse auf rohe und erhitzte Fleischwaren eine Änderung im "aktuellen" Kollagenanteil eintritt.

Für erhitzte Fleischwaren, in denen das Kollagen verleimt ist, muß eine solche Änderung in Form einer Verringerung des Kollagenanteiles angenommen werden, weil zahlreiche Keime, insbesondere Fäulniserreger, Gelatine auflösen. So bildet eine Reihe von Fäulniskeimen vom Genus *Pseudomonas*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium* u. a. Gelatinase.

Die Beobachtung, daß schon bei der Reifung von Rohwürsten besonders im Bindegewebe reichlich Keime zu finden sind (14), läßt auch dafür vermuten, daß bei der bakteriellen Verderbnis eine gewisse Änderung im Kollagengehalt eintritt.

Es soll daher im Rahmen dieser Arbeit gesondert geprüft werden, ob durch Fäulnis in Brüh- und Rohwürsten eine wahrnehmbare Abnahme des Gehaltes an verleimtem Kollagen tatsächlich eintritt.

MALL (72) hat schon 1896 beobachtet, daß anaerobe Keime aus der Gartenerde in der Lage waren, Sehnen von Ratte, Frosch und Hund zu verdauen. TISSIER und MARTELLY (106) haben festgestellt, daß *Clostridium bifermens* Muskulatur auflöst, was später als eine Kollagenase-Aktivität gedeutet wurde. Eingehende Untersuchungen über die fibrolytische Wirkung verschiedener Mikroorganismen haben WEINBERG und RANDIN (109, 110) durchgeführt und festgestellt, daß Gelatinase-Bildner auch teilweise hydrolysierte Sehne angreifen. Natives Sehnengewebe wurde aber nur von *Clostridium* (Cl.) *histolyticum* und Cl. *anthracoides* abgebaut. Dagegen ließen Cl.

welchii, Cl. bifermentans und Cl. putrificum das native Sehngewebe unverändert. Filtrate von den genannten Keimen waren ebenso aktiv wie die Keime selbst (108).

MASCHMANN (73, 74, 75, 76) führte erstmals die Bezeichnung Kollagenase ein, wich aber später wieder von dieser Bezeichnung ab, weil seine früheren Versuche für den Abbau nativen Kollagens nicht spezifisch waren.

Die kollagenabbauende Wirkung von Mikroorganismen wurde vor allem in Untersuchungen über pathologische Veränderungen studiert. So haben KROPP und SMITH (61) beobachtet, daß in der Muskulatur von Kaninchen bei künstlicher Infektion mit Cl. welchii das Kollagen des Endomysiums verschwindet. MACFARLANE und MACLENNAN (71) haben eingehende Studien über Gasbrand durchgeführt und festgestellt, daß im Toxin von Cl. welchii Typ A Kollagenase vorkommt, was später ROBB-SMITH (92) histologisch bestätigen konnte.

JENNISON (52, 53) arbeitete mit Rindersehnen und gereinigtem Rinderkollagen als Testobjekt. Filtrate von Bacillus (Bac.) brevis, Bac. mycoides, Bac subtilis, Cl. sporogenes und Cl. bifermentans zeigten schwache Aktivität, das Filtrat von Cl. lentoputrescens erwies sich als etwas aktiver, während das von Cl. histolyticum sehr aggressiv war. Die Cl. aerofoetidum, welchii und sordelli zeigten keine Wirkung. OAKLEY, WARRACK und VAN HEYNINGEN (83) bezweifelten, daß das Toxin von Cl. welchii Typ A mit der Kollagenase identisch ist und schlugen deshalb dafür die Bezeichnung "X-Toxin" vor. Kollagenase-Wirkung kann durch ein spezifisches Antiserum neutralisiert werden. Zum Studium der Kollagenase-Wirkung haben OAKLEY und Mitarbeiter Hautpulver mit Azofarbstoffen gefärbt ("azocoll") und haben von der Menge des freigesetzten Farbstoffes auf die Menge des aufgelösten Kollagens geschlossen. Später haben diese Autoren selbst ihre Methode als nicht zuverlässig bezeichnet, weil es Keime gibt, die lediglich den Farbstoff aus dem Kollagen freisetzen können (83).

EVANS (30) wies nach, daß zwischen verschiedenen Stämmen von Cl. welchii Unterschiede in der Enzymerzeugung bestehen können.

Das Aktivitätsoptimum von Kollagenase liegt nach BIDWELL und VAN HEYNINGEN (9) zwischen pH 6,0 und 7,5.

Als optimale Temperatur für die Aktivität des Filtrats wurde $37^{\circ}C$ gefunden; bei höheren und tieferen Temperaturen nimmt die Aktivität rasch ab und kommt bei $50^{\circ}C$ und $0^{\circ}C$ zum Stillstand (110).

Folgende Autoren haben weitere Untersuchungen über die Kollagenase durchgeführt: RANDALL (90), PRIE (85) sowie PIRIE, SCHMIDT und WATERS (86), MATOLTSY, GROSS und GRIGNOLD (77), DUTHIE und LORENZ (26), DELAUNAY und Mitarbeiter (21, 22, 23, 24, 25, 45), GERSH und GATCHPOLE (36), STOUGHTON und LORINGZ (103), MEYER und RAPPORT (79), TYTELL und HEWSON (108), BRISOU und MILHADE (16, 17, 18), NEUMANN und TYTELL (82), D'AMBROSIO und SALADINO (20), EVANS und PROPHET (31) sowie FAWNS und LANDELLS (34). Die Ergebnisse sind zum Teil sehr widerspruchsvoll. Eingehende histologische Untersuchungen über die Kollagenasewirkung hat ROBB-SMITH (92) durchgeführt.

Nach den bisherigen Ergebnissen auf diesem Gebiet scheint Verderbnis den Kollagengehalt in Rohwürsten nicht zu ändern. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß bisher nicht geprüfte andere proteolytisch wirkende Keime in gewissem Umfange natives Kollagen doch angreifen.

Eine weitere Möglichkeit für Änderungen des Bindegewebegehaltes von Rohwürsten kann auch im Abbau der im Bindegewebe vorhandenen nicht kollagenen Substanzen gesehen werden. Die Tatsache, daß bei Rohwürsten gerade im Bindegewebe reichlich Keime vorhanden sind (14), spricht dafür, daß das Bindegewebe ein von Keimen bevorzugtes Substrat enthält. Als solches kommen insbesondere die im Bindegewebe vorhandenen Mucopolysaccharide in Betracht. Unter den Mikroben gibt es eine Reihe von Mucinase-Bildnern, wie Streptokokken, Staphylokokken, Clostridien u. a. (88), die zum Teil auch in Rohwürsten vorkommen können.

Wenn das Kollagen durch Mucinase auch nicht angegriffen wird, so könnte der Abbau der Mucopolysaccharide im Bindegewebe doch gewisse physikalische Änderungen der kollagenen Substanz hervorrufen.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methodik

1. Herstellung und Behandlung des Untersuchungsmaterials

Zum Studium des Einflusses von Schüttung und Reichtemperatur auf den Volumenanteil des Bindegewebeisweißes in Brühwürsten wurde relativ schellwarmeres Fleisch mit verschiedenen Zusätzen an rohen und gekochten Schwarten verwendet. Hierzu wurde in einer ersten Versuchsreihe schlachtwarmes Kaninefleisch von der Hintersehenkelmuskulatur gewolft und in 8 gleiche Teile aufgeteilt. Je 2 Stücke erhielten einen Zusatz von 10 % gekochten Schwarten und eine solche von 10 % rohen Schwarten, während die restlichen beiden Proben ohne Zusatz blieben. Dann wurde von jedem Probenpaar eine Probe im Verhältnis 2 : 1, die andere im Verhältnis 1 : 1 mit Wasser gemischt und so viel Kochsalz zugegeben, daß die Salzkonzentration in der gesamten Masse jeweils 2 % betrug. Jede Probe wurde gut durchgemischt und dann bei feinsten Elastellung zweimal durch die Kollidmühle gegeben.

Für die unterschiedlichen Erhitzungen wurde jede Charge in 2 Teile geteilt, in Gläser gefüllt und je eine Probe jeder Charge bei 70 °, 100 ° und 120 ° C im Trockenschrank 30 Minuten lang erhitzt.

In einem zweiten Versuch wurden bei sonst gleichen Präparationen jeweils nur 5 % rohe oder gekochte Schwarten zugesetzt, die substantiell gleichen Proben aber bei 6 verschiedenen Temperaturen erhitzt, nämlich bei 70 °, 80 °, 90 °, 100 °, 110 ° und 120 ° C.

Zum Studium des Einflusses der bakteriellen Verderbnis auf den Kollagen-volumenanteil in Würsten wurden je 5 Sorten Rohwurst und Brühwurst bis zu 10 Tagen im Brutschrank bei 37 ° C gehalten. Von jeder Wurstsorte wurden im frischen Zustand sowie nach 5 und 10 Tagen Bebrütung Proben histometrisch auf ihren Kollagen-volumenanteil untersucht.

2. Histologische Technik

Bei den histologischen Präparationen wurde den Anweisungen von KOTTER und Mitarbeitern (55, 58, 59) sowie von PRÄNDL (89 a und b) gefolgt. Von jeder Brühwurstprobe wurden 3 Blöcke von der ungefähren Größe

2 x 2,5 x 0,5 cm von verschiedenen Stellen entnommen und zur Fixierung in Müllersche Flüssigkeit eingelegt.

Von den Rohwürsten wurden für jede Untersuchung 250 g gewolft und mit Äther entfettet. Die fettfreie Masse wurde in einer geschlossenen Petrischale zur schonenden Verleimung des Kollagens im Trockenschrank 30 Minuten auf 110°C erhitzt und dann kurz mit heißem und kaltem Wasser abgerpult. Anschließend wurde die Masse auf dem Gefriermikrotom bei einer Schnittdicke von 40 μ zerkleinert, in 10 %ige Na-Alginat-Gallerte eingebettet und zur Umwandlung des Na-Alginats in schneidbares Ca-Alginat 24 Stunden in eine 10 %ige CaCl_2 -Lösung eingelegt. Anschließend wurden die Blöcke in Müllerscher Flüssigkeit fixiert.

Nach frühestens 24 Stunden Fixierung wurden die Blöcke einige Stunden gewässert und dann von jeder Probe von verschiedenen Stellen der Blöcke insgesamt 10 Gefrierschnitte (Schnittdicke 10 μ) hergestellt. Die aufgezogenen Schnitte wurden zirka 24 Stunden bei Zimmertemperatur getrocknet und dann 3 Minuten in Anilinblau-Orange-Eisessig-Lösung gefärbt. Nach kurzer Differenzierung in Wasser wurden die Schnitte nach Durchlaufen der Alkoholreihe und des Xylols mit Canadabalsam eingebettet.

3. Auswertung der Schnitte

Die Bestimmung der Kollagenvolumenanteile erfolgte mit dem Pointcounter (89), wobei von jeder Probe alle 10 Schnitte ausgewertet wurden. Der prozentuale Anteil der für Kollagen registrierten Treffer an der Gesamttreffenzahl entspricht dem Kollagenvolumenanteil am Volumen des Gesamteiweißes.

II. Besprechung der Ergebnisse

1. Einfluß von Schüttung, Brühtemperatur und verschiedenen Schwartenzusätzen auf das Kollagenvolumen in Brühwurst

Zunächst wurde Brühwurstbrät mit verschiedenen Kollagengehalten und zwei verschiedenen Schüttungen bei drei verschiedenen Temperaturen erhitzt. Die Kollagenvolumenanteile sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

Einfluß von Schüttung, Erhitzungsgrad und Zustand
der zugesetzten Schwarten (roh, gekocht)
auf das Kollagenvolumen in Brühwurst

Gewebliche Zu- sammensetzung des Bräts	Schüttung Fleisch H ₂ O	Kollagenvolumenanteil in % bei Erhitzung des Bräts auf					
		70 ° C		100 ° C		120 ° C	
		$\bar{x}$ 1)	s^2 2)	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
sehnenarmes Muskel- fleisch							
1. ohne Zusätze	2 : 1	15	11,00	18	4,70	9	1,89
	1 : 1	18	13,61	22	21,00	13	5,78
2. mit 10 % ge- kochten Schwarten	2 : 1	33	0,34	40	0,34	38	0,45
	1 : 1	35	0,23	43	0,56	40	0,34
3. mit 10 % rohen Schwarten	2 : 1	30	5,34	39	0,12	35	0,34
	1 : 1	34	0,23	42	0,67	38	1,56

1) $\bar{x}$ = Mittelwert von je 10 Schnitten

2) s^2 = Varianz der Einzelwerte

Bei diesem Versuch hat sich gezeigt, daß durch höhere Wasserzugabe eine gewisse Zunahme des Kollagenvolumenanteiles auftritt. Bei einer Zugabe von 100 % Wasser (bezogen auf den Fleischanteil) lagen die Werte um 2 - 4 % höher als bei einer Zugabe von 50 % Wasser. Auch der Grad der Erhitzung beeinflusste den Kollagenvolumenanteil. So lagen die Kollagenanteile bei Erhitzung auf 100 ° C zwischen 3 % und 9 % höher als bei Ansätzen, die bei 70 ° C gebrüht worden waren. Die bei 120 ° C gebrühten Proben lagen im Kollagenanteil aber wieder um 2 - 9 % niedriger als die bei 100 ° C gebrühten Proben. Gegenüber den bei 70 ° C gebrühten Proben lagen die hochoerhitzten teils um 5 - 6 % niedriger (Brät ohne Zusätze), teils um 4 - 5 % höher (Brät mit Zusätzen).

Einfluß von Schüttung, Erhitzungsgrad und Zustand
auf das Kollagenvolumen

Gewebliche Zusammensetzung des Bräts	Schüttung Fleisch H ₂ O	Kollagenvolumen			
		70 ° C		80 ° C	
		$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
sehnenarmes Muskelfleisch					
1. ohne Zusatz	2 : 1	14	5,56	14	6,89
	1 : 1	16	10,00	15	6,23
2. Mit 5 % gekochten Schwarten	2 : 1	20	6,23	23	8,45
	1 : 1	20	6,67	23	8,23
3. mit 5 % rohen Schwarten	2 : 1	19	7,78	23	11,45
	1 : 1	21	10,23	25	9,78

2

d der zugegebenen Schwarten (roh, gekocht)

nen in Brühwurst

umenanteil in % bei Erhitzung des Bräts auf

90 °C		100 °C		110 °C		120 °C	
$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
15	4,56	16	4,00	15	2,67	13	2,89
19	4,12	20	7,00	16	6,67	12	6,78
26	5,12	27	5,00	25	2,23	22	7,00
29	8,00	30	7,34	26	5,67	26	3,12
23	6,34	24	19,12	23	3,56	19	2,89
27	3,12	29	4,89	25	5,56	23	10,56

Ein Unterschied im Kollagenanteil war auch zwischen den Proben mit gekochten Schwarten und denen mit rohen Schwarten zu beobachten, und zwar erhöhte ein Zusatz von 10 % roher Schwarten den Kollagenvolumenanteil um 1 - 3 % weniger als der von gekochten.

Um die teils starken Unterschiede im Kollagenvolumen bei verschiedenen Brühtemperaturen noch genauer zu erfassen, wurden in einer weiteren Versuchsreihe gleiche Proben bei sechs verschiedenen Temperaturen gebrüht. Die Zusätze von rohen und gekochten Schwarten wurden geringer gehalten (5 %) um zu prüfen, ob hierbei die gleichen Tendenzen vorliegen wie beim Zusatz von 10 % Schwarten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Mit steigender Brühtemperatur nimmt das Kollagenvolumen bis 100 °C allmählich zu und fällt bis 120 °C wieder ab. Damit hat sich das in der ersten Versuchsreihe gezeigte Maximum der temperaturabhängigen Kollagenvolumenzunahme bei 100 °C bestätigt. Bei Brät mit einer Schüttung von 50 %, bezogen auf den Fleischanteil, ist die temperaturabhängige Änderung des Kollagenvolumens deutlich geringer (3 - 5 %) als bei einer Schüttung von 100 %, was in der Versuchsreihe mit 10 % Schwartenzusätzen nicht deutlich wurde. Die temperaturabhängige Änderung des Kollagenvolumens war wider Erwarten bei Zusatz von 5 % Schwarten im Mittel nicht wesentlich geringer als bei 10 %. In der Probe mit 5 % gekochten Schwarten und einer Schüttung von 100 % war die temperaturabhängige Kollagenvolumenänderung sogar größer als bei 10 % Schwartenzusatz unter sonst gleichen Bedingungen; lediglich bei Zusatz von 5 % rohen Schwarten und einer Schüttung von 50 % war die Kollagenvolumenzunahme geringer als bei 10 % Schwartenzusatz. Auch bei Zugabe von jeweils 5 % Schwarten war zu beobachten, daß gekochte Schwarten den Kollagenvolumenanteil etwas stärker erhöhen als rohe. Bei der höheren Schüttung (100 %) wurden Kollagenwerte ermittelt, die bis zu 5 % (im Mittel 2 %) höher lagen als bei 50 % Wasserzugabe.

2. Einfluß bakterieller Verderbnis auf das Kollagenvolumen von Roh- und Brühwürsten

Zur Untersuchung des Einflusses bakterieller Verderbnis auf das Kollagenvolumen wurden verschiedene Roh- und Brühwürste bis zu 10 Tagen bei 37 °C gehalten, damit Verderbnis auftreten konnte. Die Brühwürste waren am Ende der Lagerung völlig aufgeweicht und in Fäulnis übergegangen.

so daß sich aus den 10 Tage gelagerten Proben keine Schnitte mehr anfertigen ließen. Die Rohwürste waren ebenfalls verdorben; sie zeigten Stickigkeit, jedoch keine ausgesprochene Fäulnis. Alle Proben waren auszuwerten. Das Kollagenvolumen wurde sowohl von den frischen als auch von den 5 und 10 Tage lang bebrüteten Würsten ermittelt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3 und 4 aufgeführt.

Bei allen Rohwürsten (Tab. 3) wurde mit zunehmender Bebrütungszeit ein Anstieg des relativen Kollagenvolumens beobachtet, während bei den Brühwürsten (Tab. 4) das relative Kollagenvolumen im allgemeinen abnahm.

Die Proben "Lyoner", "Wiener" und "Polnische" waren nach 10 Tagen Warmlagerung bereits so erweicht, daß davon keine Schnitte mehr hergestellt werden konnten.

Tabelle 3

Änderung des Kollagenvolumens in Rohwürsten
durch bakterielle Verderbnis

Nummer der Probe	Kollagenvolumenanteil in %					
	frisch		nach 5 Tagen Bebrütung		nach 10 Tagen Bebrütung	
	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
1	17	15,78	18	16,67	24	6,89
2	13	2,45	14	10,67	19	6,45
3	17	13,34	21	1,78	21	3,45
4	18	4,00	20	5,56	21	4,45
5	22	3,34	23	5,67	28	10,89

Tabelle 4

Änderung des Kollagenvolumens in Brühwürsten
durch bakterielle Verderbnis

Art der Probe	Kollagenvolumenanteil in %					
	frisch		nach 5 Tagen Bebrütung		nach 10 Tagen Bebrütung	
	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
Fleisch- wurst	26	9,23	25	13,78	18	23,34
Regens- burger	21	4,45	21	6,34	19	7,45
Lyoner	27	12,45	27	11,12	-	-
Wiener	11	2,45	8	1,89	-	-
gekochte Polnische Wurst	19	11,56	16	10,12	-	-

D. DISKUSSION

Das Brühwurstbrät stellt im wesentlichen eine Mischung von Skelettmuskulatur, Speck, Wasser und Salzen dar. Durch intensive mechanische Zerkleinerung des Muskelfleisches wird Muskeleiweiß freigesetzt, das dann unter der Salzeinwirkung zugegebenes Wasser aufnimmt, also hydratisiert wird, und dabei quillt, zum Teil sogar in Lösung geht. Die Lösung des Muskeleiweißes ist erforderlich, um bei der nachfolgenden Erhitzung durch zusammenhängende Koagulation eine schnittfeste Masse zu erhalten, die ungelöste Muskelteilchen und Fett einschließt. Bei der Koagulation des Muskeleiweißes wird gebundenes Wasser teilweise wieder frei und in kleinen Poren eingeschlossen (56). Das kollagene Eiweiß verleimt bei der Erhitzung und geht in einen temperaturabhängigen wasserlöslichen Zustand über, wobei Wasser gebunden wird. Da bei gleichem Fleisch und gleicher Salzung die im koagulierten Muskeleiweiß durch molekulare Kräfte gebundene Wassermenge etwa konstant sein dürfte ist anzunehmen, daß bei der Koagulation um so mehr Wasser frei wird je mehr vorher kolloidal gebunden war, also je größer bei sonst gleichen Voraussetzungen die Wasserzugabe zum Muskelfleisch war.

Aus dieser Vorstellung ergab sich die Frage, ob die bei der Koagulation in Abhängigkeit von der Schüttung freigegebenen Wassermengen unterschiedliche Lösungsvolumina für das Kollagen darstellen, ob also der Kollagen-volumenanteil von der Schüttung abhängig ist. Die gewählten Wasserzusätze waren mit 50 % und 100 % des Fleischanteiles bewußt stark unterschiedlich gehalten worden. Trotzdem waren die Unterschiede im Kollagenvolumen mit maximal 5 % (im Mittel zirka 3 %) gering und können als praktisch belanglos angesehen werden.

Einen wesentlich größeren Einfluß auf den Kollagenvolumenanteil haben unterschiedliche Brühtemperaturen gezeigt. Bei 100 ° C betrug gegenüber 70 ° C die Kollagenvolumenzunahme durchschnittlich 6 %. Diese Beobachtung steht im Widerspruch zu den kürzlich von GERIGK (114) veröffentlichten Ergebnissen, der an Modellwürsten nach Erhitzung auf 95 ° C niedrigere Kollagenvolumenanteile ermittelte als an solchen, die bei 75°C gebrüht worden waren. Welche Ursachen für diese Diskrepanz anzunehmen sind, könnte erst durch weitere koordinierte Untersuchungen geklärt werden. Der von uns beobachtete Temperatureffekt dürfte darauf zurückzuführen sein, daß bei Temperaturen um 100 ° C das hydratisierte Muskeleiweiß mehr Wasser

abgibt als bei niedrigeren und damit für das verleimte Kollagen unterschiedliche Lösungsvolumina gegeben sind. Für diese Abhängigkeit des Kollagenvolumens von der Dehydratation des Muskeleiweißes spricht auch die Tatsache, daß bei unterschiedlichen Schwartenzusätzen die temperaturabhängigen Kollagenvolumenänderungen etwa gleich waren; bei den Ansätzen ohne Kollagenzusatz war allerdings der Einfluß geringer. Diesen Vorstellungen widerspricht scheinbar die gegenläufige Erscheinung bei Erhitzung des Bräts auf 120°C , wobei wesentlich geringere Kollagenvolumenanteile ermittelt wurden als bei der Erhitzung auf 100°C . Bei sehnenarmem Fleisch ohne Zusätze war der Kollagenvolumenanteil bei Erhitzung auf 120°C in der Regel sogar geringer als bei Brühtemperaturen von 70°C .

Aus der gewerblichen Herstellung von brühwurstartigen Fleischkonserven, wie "luncheon meat", "Jagdwurst und dergleichen, ist bekannt, daß sich bei hocheerhitzten Konserven ohne gesonderte Zusätze an quellbaren Stoffen neben Fett Gallerte, also Kollagen, absetzt. Offenbar wird durch starke Schrumpfung des koagulierten Muskeleiweißes das freigesetzte Wasser und das darin gelöste Kollagen zum Teil aus dem Koagulat ausgepreßt. Bei den auf 120°C erhitzten Proben war reichlich gelatinisierender Saft ausgetreten und das Volumen des Koagulats stark verringert. Bei 100°C war nur geringer Saftaustritt zu beobachten, und bei 70°C füllte das Koagulat jeweils das Behältnis ohne Flüssigkeitsabsonderung völlig aus. Für die temperaturabhängige Änderung des Kollagenvolumens im Brühwurstbrät sind daher zwei gegenläufige Vorgänge anzunehmen, nämlich daß einmal mit steigender Temperatur die Hydratation des koagulierten Muskeleiweißes abnimmt und so das Lösungsvolumen für verleimtes Kollagen vergrößert wird, ein Vorgang, der bis zu einer Erhitzungstemperatur von 100°C kontinuierlich zunimmt. Andererseits scheinen bei Temperaturen über 100°C neben einer wahrscheinlich weiteren Dehydratation des Muskeleiweißes Schrumpfungsvorgänge verstärkt einzusetzen, durch die das freie Wasser und mit ihm das darin gelöste Kollagen aus dem Koagulat ausgepreßt wird. Das Volumen an eingeschlossenem Wasser und dem darin gelösten Kollagen nimmt auf diese Weise ab, und es liegt somit ein geringerer Kollagenvolumenanteil vor als bei Material, das auf 100°C erhitzt worden war. Diese Einflüsse auf den histometrisch zu ermittelnden Kollagenvolumenanteil könnten durch Einbeziehung des Geleeabsatzes zur Vorzerkleinerung und Einbettung theoretisch eliminiert werden, dabei ergibt sich aber die Schwierigkeit, daß durch die geringe Gelfestigkeit der Gallerte die nichtkollagenen Eiweißteilchen mit einem Gelatinefilm überzogen werden und so unklare Schnittbilder entstehen. Andererseits würden bei Einbeziehung der Gallerte wohl zu hohe Werte ermittelt wer-

den, da wahrscheinlich die im Kern der Wurstmasse verbleibenden kollagenen Gewebsteilchen nicht im gleichen Maße ihr Volumen verringern wie das ausgetretene Kollagen neues Volumen bildet. Inwieweit die von GERIGK (114) beobachtete Abnahme des Kollagenvolumenanteils mit steigender Erhitzung auf vermehrten Geleeabsatz zurückzuführen ist, geht aus den Ausführungen von GERIGK nicht hervor. Vielleicht sind die widersprechenden Ergebnisse wenigstens zum Teil auf unterschiedliche Geleeabscheidungen bei den Modellversuchen zurückzuführen. Es bleibt noch zu prüfen, wie sich der Kollagenvolumenanteil in Abhängigkeit von der Erhitzung dann verändert, wenn durch besondere Zusätze, wie Milcheiweiß und dergleichen, der Geleeabsatz völlig verhindert wird.

Da die temperaturabhängigen Unterschiede im Kollagenvolumen mit Werten bis zu 10 % erheblich sind, ergibt sich nun die Frage, ob diese Einflüsse die Brauchbarkeit der histometrischen Kollagenbestimmung in Frage stellen und eine Korrektur der aufgestellten Grenzwerte erforderlich macht,

Die von KOTTER, DEGENKOLB, PRÄNDL und GERVASINI (55, 59) erarbeiteten Grundlagen für die Beurteilung des Kollagenvolumens von Brühwürsten wurden vor allem auch an Dosenwürstchen verschiedener Zusammensetzung ermittelt, die auf etwa 100 °C erhitzt waren. Damit waren unbeabsichtigt schon die Verhältnisse gewählt worden, bei denen die relativ zur tatsächlichen Menge höchsten Kollagenvolumenwerte gefunden werden.

Die von KOTTER und Mitarbeitern aufgestellten Grenzwerte können daher auch im Hinblick auf technologische Einflüsse als so hoch angesetzt betrachtet werden, daß dabei ungerechtfertigte Beanstandungen sicher noch ausgeschlossen bleiben.

Beim Studium der Änderung des Kollagenvolumens durch bakterielle Verderbnis waren bei Roh- und Brühwürsten gegenläufige Vorgänge zu beobachten. Während das Volumen des rohen Kollagens in Rohwürsten bei der Bratung zunahm, wurde das Volumen des verlebten Kollagens in Brühwürsten durch Fäulnis vermindert. Offenbar wurde einerseits das rohe Kollagen durch bakterielle Fermente und p_H -Senkung aufgelockert und stärker hydratisiert, und andererseits verringerte vielleicht das Muskeleiweiß unter den gleichen Einwirkungen sein Volumen, so daß das Kollagen bakteriell verdorbener Rohwürste nach der präparativen Verleimung (siehe Methodik) ein größeres relatives Volumen einnahm als das von frischen Rohwürsten. Die bei der Verderbnis von Rohwürsten eintretenden Veränderungen des Kollagens und des Muskeleiweißes sind so komplexer Natur, daß für eine Erklärung der gemachten Beobachtungen noch weitere Studien erforderlich sind.

Die Verringerung des Kollagenvolumenanteils in Brühwürsten durch Fäulnis dürfte darauf zurückzuführen sein, daß gewisse Keime Gelatine leichter und rascher zersetzen als denaturiertes Muskeleiweiß. Bei einem Teil der Proben war nach 10tägiger Warmlagerung allerdings auch das koagulierte Eiweiß bereits so weit aufgelöst, daß keine Schnitte mehr hergestellt werden konnten. Auch bei der Verderbnis von Brühwürsten sind zur Aufklärung des selektiven Eiweißabbaues noch weitere Untersuchungen notwendig.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann aber schon jetzt festgestellt werden, daß der Kollagenvolumenanteil von bereits bakteriell verdorbenen Roh- und Brühwürsten kein zuverlässiges Qualitätskriterium darstellt. Lediglich wenn bei verdorbenen Brühwürsten zu hohe Werte gefunden werden, könnte daraus der Schluß gezogen werden, daß tatsächlich zu kollagenreiches Material verarbeitet wurde.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Das Schrifttum über den ernährungs-physiologischen Wert des Kollagens sowie über die Veränderungen des Kollagens durch Hitze und durch bakterielle Enzyme wurde besprochen.
2. An Modellbrühwürsten wurden die Einflüsse von Schüttung, Brühtemperatur und Zusatzmenge an kollagenen Substanzen auf den Kollagenvolumenanteil untersucht.
3. Die von KOTTER und Mitarbeitern vorgeschlagenen Grenzwerte für die Kollagenvolumenanteile in Brühwürsten können auch im Hinblick auf die geprüften technologischen Einflüsse als so großzügig angesetzt betrachtet werden, daß ungerechtfertigte Beanstandungen ausgeschlossen bleiben.
4. Durch Fäulnis wird in Brühwürsten der Kollagenvolumenanteil erniedrigt, in Rohwürsten erhöht. Der Kollagenvolumenanteil von Brüh- und Rohwürsten die nach der Entnahme verdorben sind, kann daher nicht für eine Qualitätsbeurteilung zugrunde gelegt werden. Lediglich wenn verdorbene Brühwürste zu hohe Kollagenvolumenwerte aufweisen kann der Schluß gezogen werden, daß tatsächlich zu kollagenreiches Ausgangsmaterial verwendet worden ist.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abderhalden, E., und
O. Meyer: Über den Nachweis von aktivem Pepsin
im Darminhalt mittels Elastin.
Hoppe-Seylers Zeitschr. Physiol. Chem.
74 (1911), 67;
2. Antonacopoulos, N.: Vorschläge zur quantitativen Bestimmung
des Bindegewebes in Fleisch und seinen
Zubereitungen. Diss. rer. nat. München 1957;
3. Astbury, W.T.: C. v. Lab. Carlsburg 22 (1937), 45;
Trans. Faraday Soc. 34 (1938), 377;
J. Int. Soc. Leather Trades Chem. 24
(1940), 69;
4. Balo, J., und
I. Banga: The Elastolytic Activity of Pancreatic
Extracts. Biochem. J. 46 (1950), 384;
5. Banga, I., und
A. Nowotny: Zeitschr. Vit. Horm. Ferm. Forsch. 4
(1951), 54;
6. Baumstark, R., und
O. Cohnheim: Über Bindegewebsverdauung.
Hoppe-Seylers Zeitschr. Physiol. Chem.
65 (1910), 477;
7. Bear, R.S.: The Structure of Collagen Fibrils.
Adv. Prot. Chem. 7 (1952), 69;
8. Berg, H.W.: Die Bestimmung des Tryptophans in
Fleischerzeugnissen; ein neuartiges Ver-
fahren zur Ermittlung des Kollagen- und
Elastingehaltes. Diss. rer. nat. Münster 1958;
9. Bidwell, E., und
W.E. van Heyningen: Biochemistry of the gas gangrene toxins.
III. Development of a medium suitable
for the large scale production of the toxins
of Clostridium welchii type A. Biochem.
J. 42 (1948), 140;

10. Bidwell, E.: The x-toxin (collagenase) of *Clostridium welchii*. II. The effect of alkaline pH and heat. *Biochem. J.* 44 (1949), 28;
11. Block, R.J.: *Adv. Protein Chem.* 2 (1945), 123;
12. Bongert, J.: *Veterinäre Lebensmittelüberwachung*. Verlagsbuchhandlung R. Schoetz, Berlin 1930, S. 228;
13. Bowes, J.H., und J.A. Moss: *Biochem. Zeitschr.* 55 (1953), 735;
14. Brandes, H.: *Histologische Untersuchungen von Rohwurst mit Fabrikationsfehlern unter Berücksichtigung der Lagerung der verschiedenen Bakterien im Wurstgut*. Diss. med. vet. Hannover 1956;
15. Braybrooks, W.E., D.Mc. Candlish und W.R. Atkin: *Trades Chem.* 23 (1939), 111, 135;
16. Brisou, J., und J. Milhade: *Collagenases*. *Bull. Soc. Chim. biol.* Paris 33 (1951), 64;
17. Brisou, J.: *Collagène et collagenases microbiennes*. *Biol. méd. Paris* 41 (1952), 264;
18. Brisou, J.: *Mise en évidence des collagenases microbiennes*. *Ann. Inst. Pasteur* 81 (1951), 117;
19. Cherbuliez, E., J. Jeannerat und K.H. Meyer: *Über Kollagen und verwandte Substanzen*. *Hoppe-Seylers Zeitschr. Physiol. Chem.* 254 (1938), 241;
20. D'Ambrosio, G., und E. Saladino: *Ricerche sulle collagenasi batteriche* G. Batt. *Immun.* 43 (1951), 31;

21. Delaunay, A., und M. Guillaumie: Les collagenases (Rapport présenté le 20 février 1952 à la séance solennel de la Société de Thérapeutique et de Pharmacodynamie). Thérapie 7 (1952), 218;
22. Delaunay, A., M. Guillaumie und M. Delaunay: Études sur le collagène. I. A propos des collagenases bactériennes. Ann. Inst. Pasteur 76 (1949), 16;
23. Delaunay, M., M. Guillaumie, A. Boriinah und G. Basset: Études sur le collagène. V. Collagenases bactériennes et pouvoir anti-collagénase des sérums humains normaux. Ann. Inst. Pasteur 79 (1950), 270;
24. Delaunay, M., M. Guillaumie und A. Delaunay: Études sur le collagène. III. Traitement des scléroses expérimentales par une collagenase-premiers resultats. Ann. Inst. Pasteur 77 (1950), 603;
25. Delaunay, M., M. Guillaumie und A. Delaunay: Études sur le collagène. II. Nouvelles recherches sur les collagenases bactériennes. Ann. Inst. Pasteur 77 (1950), 220;
26. Duthie, E.S., und L. Lorenz: Protease inhibitors. II. Bacterial protases and their inhibitors. Biochem. J. 44 (1949), 173;
27. Engelmann, Th. W.: Bemerkungen zur Theorie der Sehnen- und Muskelverkürzung. Pflügers Arch. 8 (1874), 95;
28. Ewald, A., und W. Kühne: Die Verdauung als histologische Methode. Verhandlungen des Natur-Histo-Med. Vereins zu Heidelberg 1 (1877), 457;
29. Ewald, A.: Beiträge zur Kenntnis des Kollagens. Hoppe-Seylers Zeitschr. Physiol. Chem. 105 (1919), 115;

30. Evans, D.G.: The production by certain species of Clostridium of enzymes disintegrating hide powder. J. gen. Microbiol. 1 (1947), 378;
31. Evans, D.G., und A.G. Prophet: Disintegration of human dentine by bacterial enzyme. Lancet 1 (1950), 290;
32. Farkas, G.: Über eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Gelatine. Biochem. Zeitschr. 264 (1933), 361;
33. Fontaine, M.: La digestibilité comparée des aliments frais et en conserves. Rap. Cong. Int. Cons. 1951, octobre, 111;
34. Fawns, H.T., und J.W. Landells: The application of collagenase and hyaluronidase to the study of cartilage in histological sections. J. Physiol. 117 (1952), 5;
35. Gerngroß, O., K. Hermann und W. Abitz: Über den Feinbau des Gelatinemicells. Biochem. Zeitschr. 228 (1930), 409;
36. Gersh, I., und H.R. Catchpole: The organization of ground substance and basement membrane, and its significance in tissue injury, disease and growth. Amer. J. Anat. 85 (1949), 457;
37. Graßmann, W.: Untersuchungen über Kollagen. Kolloid Zeitschr. 77 (1936), 205;
38. Garret, R.R., und P.J. Flory: Nature 174 (1956), 176;
39. Graßmann, W.: Unsere heutige Kenntnis des Kollagens. Das Leder 6 (1955), 241;
40. Graßmann, W., J. Janicki und F. Schneider: Über die Einwirkung von Trypsin auf Kollagen. Stiasny-Festschrift, E. Roether Verlag, Darmstadt 1937, 74;

41. Graßmann, W.: Collegium, Darmstadt 1934, 549;
42. Grau, R., und R. Hamm: Die Bestimmung des Bindegewebes in rohem Fleisch durch enzymatische Hydrolyse. Zeitschr. Lebensmittel-Untersuchg. u. Forschg. 93 (1951), 201;
43. Grau, R., und R. Hamm: Über die Proteolyse der Fleischproteine. II. Mitt. Bestimmung des Bindegewebes in verarbeitetem Rohfleisch durch enzymatische Hydrolyse. Zeitschr. Lebensmittel-Untersuchg. u. Forschg. 98 (1954), 425;
44. Gretillat, S.: Contribution à l'étude de la digestibilité des viandes. Thèse Doct. Vétér., Paris 1949;
45. Guillaumie, M., S. Mrchevitch, M. Delaunay und G. Beconlet: Évaluation de l'activité collagénobasique de la toxine Clostridium perfringens. Ann. Inst. Pasteur 78 (1950), 190;
46. Gustavson, K. H.: Untersuchungen über das Wesen der Eiweißdenaturierung durch Prüfung der Reaktionsfähigkeit einiger nativer und hitzedenaturierter Proteine. Biochem. Zeitschr. 311 (1942), 347;
47. Hári, P.: Kurzes Lehrbuch der Physiologischen Chemie. Julius Springer Verlag, Berlin, 1922, S. 149;
48. Hoagland, B. R., und G. G. Snider: Nutritive Value of the Protein in calf lungs, cow udders and hog spleens. J. Agric. Res. 53 (1936), 349;
49. Hofmeister, F.: Die chemische Struktur des Kollagens. Hoppe-Seylers Zeitschr. Physiol. Chem. 2 (1878), 299;
50. Hoppe-Seyler, C., und K. Lang: Eine Methode zur Bestimmung der Bindegewebssubstanz (Kollagen) in Organen. Hoppe-Seylers Zeitschr. Physiol. Chem. 214 (1933), 193;

52. Jennison, M.W.: Bacterial collagenase. J. Bact. 50 (1945), 369;
53. Jennison, M.W.: The collagenase activity of culture filtrates of *Clostridium histolyticum*. J. Bact. 54 (1947), 55;
54. Katsch, G.: Handbuch der inneren Medizin. 3. Aufl. Verlag Bergmann-Staehlin, 1938, Bd. 3/1, S. 410;
55. Kotter, L., und E. Degenkolb: Zur Beurteilung und zum Nachweis kollagener Substanzen (Schwarten, Sehnen usw.). Fleischwirtschaft 8 (1956) 191;
56. Kotter, L., und O. Prändl: Chemisch-physikalische Vorgänge bei der Brühwurstfabrikation. Arch. Lebensmittelhyg. 7 (1956), 219;
57. Kotter, L., und O. Prändl: Physikalisch-chemische Vorgänge bei der Fabrikation schnittfester Rohwürste. Fleischwirtschaft 10 (1958), 26;
58. Kotter, L.: Zum Nachweis kollagener Substanzen in Wurstwaren. Wien. Tierärztl. Mschr. 44 (1957), 705;
59. Kotter, L., O. Prändl und C. Gervasini: Experimentelle Grundlagen für die Beurteilung des Kollagenvolumens von Brühwürsten. Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 243;
60. Kraybill, H.R.: The Nutritive Aspects of Meat and Meat Products. Proteins and Amino Acids in Nutrition. Reinhold Publishing Corporation, New York, 1948, 199;
61. Kropp, B., und D.G. Smith: Connective tissue and phagocytic in experimental gas gangrene infection guinea pigs. Effect of sulfanilamide. War Med. Chicago 1 (1941), 682;

62. Krzywanek, F.W., und B. Flaschenträger: Die Biochemie der Verdauung. In: Flaschenträger, B., und E. Lehnarzt: Physiologische Chemie. Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1954, 2. Bd. 1. Teil Bandteil a, S. 76;
63. Küntzel, A.: Physikalische Chemie und Kolloidchemie der Eiweißkörper unter besonderer Berücksichtigung des Kollagens. In: Graßmann, W.: Handbuch der Gerbereichemie und Lederfabrikation, Bd. I, Teil 1. Springer-Verlag, Wien, 1944, S. 511;
64. Küntzel, A., und F. Pranke: Morphologie und Feinbau der kollagenen Fasern. Biochem. Zeitschr. 267 (1933), 242;
65. Küntzel, A.: Über die Verleimung des Kollagens. Stiasny-Festschrift. E. Roether-Verlag, Darmstadt, 1937, S. 191;
66. Küntzel, A., und H. Koepff: Die Bedeutung der Aeschervorbehandlung für die Umwandlung von Kollagen in Gelatine. Collegium, Darmstadt, 1938, 433;
67. Küntzel, A., und O. Dietsche: Einwirkung von Pankreatin auf Kollagen in Anwesenheit von Neutralsalzen und Puffergemischen; Collegium, Darmstadt, 1931, 136, 146;
68. Kuhn, K.: Kolloidchem. Beih. 14 (1921/22), 147;
69. Lang, K.: Die Physiologie der Ernährung. In: Lang, K., und R. Schoen: Die Ernährung. Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1952, S. 122;

70. Lerche, M.,
H. Rievel und
V. Goerttler: Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittel-
überwachung, 3. Aufl. Verlag M. u. H.
Schaper, Hannover, 1957, S. 176;
71. MacFarlane, R.C., und The toxæmia of gas gangrene. *Lancet* 2
J.D. MacLennan: (1945), 328;
72. Mall, F.P.: Reticulated tissue and its relation to the
connective tissue fibrils. *Johns Hopk. Hosp.*
Rep. 1 (1896), 171;
73. Maschmann, E.: Über Bacterienproteasen. II. Mitt. *Biochem.*
Zeitschr. 295 (1937), 1;
74. Maschmann, E.: Über Bacterienproteasen. III. Mitt. Die
Proteasen des *Bacillus Perfringens*. *Biochem.*
Zeitschr. 295 (1937), 351;
75. Maschmann, E.: Über Bacterienproteasen. IX. Mitt. Die
Anaerobiose der Gasbranderreger. *Biochem.*
Zeitschr. 297 (1938), 284;
76. Maschmann, E.: Zur Kenntnis der Proteasen des *Bacillus*
sporogenes. Über eine neue Proteinase und
über aktivierbare Peptidasen. *Biochem.*
Zeitschr. 300 (1938), 89;
77. Matoltsy, A.G.,
J. Gross und
A. Grignold: A study of the fibrous components of the
vitrous body in the electron microscope.
Proc. Soc. exp. Biol. New York 76 (1951),
857;
78. Merrill, H.B., und J. amer. Leather chem. Ass. 22 (1927),
J.W. Fleming: 139, 274;
79. Meyer, K., und Hyaluronidase. *Advanc. Enzymol.* 13
M.M. Rapport: (1952), 199;

80. Mitchell, H.H.,
J.R. Beadles und
J.H. Krüger: Die Beziehungen zwischen Bindegewebsgehalt
des Fleisches und Proteinwert der Nahrung.
J. biol. Chem. Zbl. 1927, 2 (1859), 73, 767,
774;
81. Möhler, K., und
N. Antonacopoulos: Chemische Bestimmung von Bindegewebe in
Fleisch und seinen Zubereitungen. Zeitschr.
Lebensmittel-Unters. u. Forschg. 106 (1957),
425;
82. Neumann, R.E., und
A.A. Tytell: Action of proteolytic enzymes on collagen.
Proc. Soc. exp. Biol. New York 73 (1950),
409;
83. Oakley, C.L.,
H. Warrack und
W.E. van Heyningen: The collagenase (x-toxin) of Clostridium
welchii type A. J. Path. Bact. 58 (1946),
229;
84. Piettre, M.: Inspection des viandes et des aliments
d'origine carnée. 2. Vol. Bailliere ed.
Paris, 1922, S. 1, 28;
85. Pirie, A.: Zitiert nach Bidwell (10);
86. Pirie, A.,
G. Schmidt und
J.W. Waters: Ox vitreous humour. I. The residual protein.
Brit. J. Ophthal. 32 (1948), 321;
87. Pitre, J.: Appréciation de la qualité des pâté par
l'épreuve de digestibilité in vitro. Recueil
Méd.-vét. de l'École d'Alfort. Tome
CXXX (1954), 503;
88. Ploetz, Th., und
R. Weidenhagen: Hydrolasen. In: Flaschenträger, B., und E.
Lehnarzt: Physiologische Chemie. Springer-
Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg,
1951. Bd. 1, 2. Spez. Teil, S. 1068;
- 89a. Prändl, O.: Über die Einbettung von Wurstproben für die
histologische Untersuchung. Arch. Lebens-
mittelhyg. 10 (1959), 32;

89. Prändl, O.: Die histologische Analyse von Gewebe- und Organmengen. Grundlagen für die quantitative Auswertung histologischer Präparate. Habilitationsschrift 1960. Verlag G. Röttger, München, 1961, S. 105;
90. Randall, J. T.: Nature and Structure of Collagen. Butterworths Scientific Publications, London, 1953, S. 16;
91. Rollet, A.: Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig, 1871, 1. Bd. S. 54;
92. Robb-Smith, A. H. T.: Tissue changes induced by Clostridium welchii type A filtrates. Lancet 2 (1945), 362;
93. Saint-Aubert, G. de: De l'Expertise histologique des produits manipulés de charcuterie. Ann. Fals. Fraud. 51 (1958), 395;
94. Sauer, E.: Tierische Leime und Gelatine. Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1958, S. 34;
95. Scheunert, A., und J. Brüggemann, V. Horn und H. Hill: In: Scheunert-Trautmann: Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 4. Aufl., Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1957, S. 27;
96. Schmid, A.: Zitiert nach Baumstark und Cohnheim (6);
97. Schneider, F.: Erg. Enzymforsch. 7 (1938), 138;
98. Schönberg, F., und E. H. Lochmann: Über einen einfachen und ausreichend sicheren Weg zur Bestimmung des Bindegewebsanteils, besonders des Sehnenanteils in rohem Fleisch und in Rohwürsten. Arch. Lebensmittelhyg. 8 (1957), 11;

99. Sizer, I. W.: Enzymatologie 13 (1949), 288;
100. Smorodinzew, J. A.: Beurteilung der Fleischqualität durch künstliche Verdauung mit Pepsin. Zeitschr. Lebensmittel-Unters. u. Forschg. 67 (1934), 429;
101. Stather, F., und H. Machon: Biochem. Zeitschr. 239 (1931), 430;
102. Stiasny, I. E., und W. Ackermann: Über die Wirkung von Trypsin auf Kollagen und die Beeinflussung dieser Wirkung durch Neutralsalze. Kolloidchem. Beih. 17 (1923), 219;
103. Stoughton, R. B., und A. L. Loringz: The action of collagenase on skin and the anti-collagenase factor in human serum. J. invest. Derm. 16 (1951), 43;
104. Striegel, A.: Quantitative Trennung von Leim- und Eiweißstoffen. Chem. Ztg. 41 (1917), 313;
105. Thomas, A., und F. L. Seymour-Jones: The Hydrolysis of Collagen by Trypsin. Amer. chem. soc. 45 (1923), 1515;
106. Tissier, H., und E. Martelly: Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. Ann. Inst. Pasteur 16 (1902), 865;
107. Tsen, C. C., und A. L. Tappel: Meat tenderization. III. Hydrolysis of Actomyosin, Actin and Collagen by Papain. Food Research 24 (1959), 362;
108. Tytell, A. A., und K. Hewson: Production, purification and some properties of Clostridium histolyticum collagenase. Proc. Soc. exp. Biol. New York 74 (1950), 555;

109. Weinberg, M., und A. Randin: Ferment fibrolytique d'origine microbienne. C.R. Soc. Biol. Paris 107 (1931), 27;
110. Weinberg, M., und A. Randin: Propriétés physicochimiques du ferment fibrolytique d'origine microbienne. C.R. Soc. Biol. Paris 110 (1932), 352;
111. Wiss, O.: Stoffwechsel der Eiweißstoffe und Aminosäuren. In: Flaschenträger, B., und E. Lehnarzt: Physiologische Chemie. Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg, 1954, 2. Bd., 1. Teil, Bandteil b, S. 933;
112. Wöhlisch, E., und Du Mesnil de Rochemont: Die Thermodynamik der Wärmeumwandlung des Kollagens. Zeitschr. Biol. 85 (1927), 406;
113. Zuntz: Zitiert nach Bongert (12);
114. Gerigk, K.: Histologische Beurteilung von Brühwürsten. Berlin, München, Tierärztl. Wschr. 75 (1962), 73.

Herrn Professor Dr. L. Kotter danke ich für
die freundliche Überlassung des Themas.

Ebenso danke ich Herrn Professor
Dr. O. Prändl für Anleitung und wertvolle
Anregung bei der Gestaltung dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 15. September 1932 wurde ich, Dimitrios Baxevanis, als Sohn des Landwirts Nikolaos Baxevanis und dessen Ehefrau Maria, geb. Kadiri, in Zoni (Griechenland) geboren.

Nach 6jährigem Besuch der Volksschule wechselte ich zum Gymnasium in Didymotiechon über, wo ich im Jahre 1952 die Reifeprüfung bestand. Anschließend hatte ich zwei Jahre eine Stelle als Aushilfsvolksschullehrer in Zoni-Orestiadon inne. Im September 1954 wurde ich für drei Jahre in die griechische Armee einberufen. Während dieser Zeit besuchte ich die Militärschule auf Kreta und war danach während der 3jährigen Dienstzeit zwei Jahre als Reserveoffizier tätig. Nach Absolvierung meiner Wehrdienstzeit entschied ich mich für das veterinärmedizinische Studium in München.

Während meiner Studienzeit heiratete ich am 30. August 1959 meine Frau Klio, geb. Jakobidou, in Neurokopi-Drama (Griechenland). Aus dieser Ehe ist am 23. Januar 1961 ein Sohn, Christophoros, hervorgegangen.

Das tiermedizinische Studium beendete ich im Sommer 1962 mit der tierärztlichen Prüfung.

